

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 455 155 A1**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 91106774.2

(51) Int. Cl.⁵: **C07C 255/59**, A61K 31/275,
A23K 1/16

(22) Anmeldetag: 26.04.91

(30) Priorität: 04.05.90 DE 4014252

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
06.11.91 Patentblatt 91/45

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE

(71) Anmelder: **BOEHRINGER INGELHEIM
VETMEDICA GMBH**

W-6507 Ingelheim/Rhein(DE)

(72) Erfinder: **Resemann, Wolfgang, Dr.
Dipl.-Chem.**

Rosenstrasse 25
W-7950 Biberach 1(DE)

Erfinder: **Dürr, Adolf,**
Mozartstrasse 1

W-7950 Biberach 1(DE)

Erfinder: **Engelhardt, Günther, Prof. Dr.**
Unterer Bühl 18

W-7950 Biberach 1(DE)

Erfinder: **Quirke, John Francis, Dr.**
Metzrothstrasse 2

W-6530 Bingerbrück(DE)

(54) **Enantiomerentrennung von Cimaterol, (-)-Cimaterol, und dessen Verwendung als Arzneimittel oder als Leistungsförderer.**

(57) Die Erfindung betrifft die Enantiomerentrennung von Cimaterol, (-)-Cimaterol, dessen Additionssalze und Verfahren zu ihrer Herstellung sowie deren Verwendung als Arzneimittel oder Leistungsförderer.

EP 0 455 155 A1

In der US-A-4.119.710 wird u. a. das Racemat 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol (generic name: Cimaterol) und dessen pharmazeutische Eigenschaften beschrieben. So weisen die in der US-A-4.119.710 beschriebenen Verbindungen neben einer analgetischen, uterusspasmolytischen und einer antispastischen Wirkung auf die quergestreifte Muskulatur, insbesondere β_2 -mimetische und/oder β_1 -blockierende Wirkungen auf, wobei je nach ihrer Substitution die eine oder andere Wirkung im Vordergrund steht. Außerdem wird in der US-A-4.119.710 festgestellt, daß die d-(+)-Verbindungen insbesondere eine selektive Wirkung auf die β_1 -Rezeptoren und die l-(-)-Verbindungen eine bevorzugte Wirkung auf die β_2 -Rezeptoren aufweisen.

Desweiteren wird in der US-A-4.407.819 u. a. die leistungsfördernde Wirkung von Cimaterol bei Tieren beschrieben.

Es ist ferner bekannt, daß normalerweise eines der beiden Enantiomeren eines Racemats eine größere Wirksamkeit als das andere Enantiomere aufweist. Aus diesem Grunde lag der vorliegenden Anmeldung die Aufgabe zugrunde, das literaturbekannte Racemat in seine neuen Enantiomeren aufzutrennen.

Bei der Lösung dieser Aufgabe traten überraschenderweise Schwierigkeiten auf, obwohl bereits in der US-A-4.119.710 zwei Verfahren zur Racemattrennung dieser Verbindungen beschrieben werden, nämlich

a) die Auftrennung eines Gemisches von diastereomeren Verbindungen, die durch Umsetzung eines entsprechenden Racemats mit einem chiralen Acylrest erhalten werden, und anschließende Abspaltung des chiralen Acylrestes, z.B. des (-)-Menthylcarbonylrestes, oder

b) die fraktionierte Kristallisation eines Gemisches ihrer diastereomeren Salze mit einer optisch aktiven Hilfssäure.

Die Racemattrennung a) erschien dabei von Anfang an wegen der im Cimaterol vorhandenen Cyanogruppe wenig erfolgsversprechend zu sein, da bei der anschließend erforderlichen hydrolytischen oder hydrogenolytischen Abspaltung des chiralen Acylrestes die vorhandene Cyanogruppe zumindest teilweise hydrolytisch oder hydrogenolytisch verändert wird.

Die übliche Racemattrennung b), welche darin besteht, daß ein entsprechendes diastereomeres Salz durch Erhitzen in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und anschließend beim Abkühlen das schwerer lösliche diastereomere Salz zuerst auskristallisiert, wobei dieser Vorgang bis zur Isolierung des reinen schwerer löslichen diastereomeren Salzes erforderlichenfalls mehrmals wiederholt werden kann, und anschließend aus dem so erhaltenen reinen diastereomeren Salz die gewünschte enantiomere Base freigesetzt wird, führte überraschenderweise bei Cimaterol nicht zum Ziele, wie aus dem beigefügten Referenzbeispiel hervorgeht.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, daß sich racemisches Cimaterol, das bereits eines der gewünschten Enantiomere in angereicherter Form enthalten kann, durch Lösen von Cimaterol und mindestens 2 Äquivalenten, zweckmäßigerweise von 2 bis 7 Äquivalenten, vorzugsweise jedoch von 2 bis 4 Äquivalenten, einer optisch aktiven zweibasischen Hilfssäure wie (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure, (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure, (-)-0,0'-Ditolyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Ditolyl-D-weinsäure unter Einhaltung eines für jede Hilfssäure bestimmten Temperaturbereichs, welcher zweckmäßigerweise oberhalb von 20° C, vorzugsweise jedoch zwischen 25 und 30° C, liegt, in einem geeigneten Lösungsmittel über seine beiden diastereomeren Salze und anschließende Freisetzung der enantiomeren Base auftrennen läßt. Hierbei fällt das gewünschte diastereomere Salz mit einer Reinheit von mindestens ee = 90 % nach kurzer Zeit aus, z. B. nach 1 bis 5 Minuten, wobei allerdings der für jede Hilfssäure charakteristische Temperaturbereich, welcher durch übliche Handversuche ermittelt werden kann, nicht unterschritten werden darf. Die Lösung der beiden Komponenten erfolgt hierzu vorzugsweise gleichzeitig, eine Lösung der einen Komponenten kann selbstverständlich auch zu einer Lösung der anderen Komponenten gegeben werden.

Besonders vorteilhaft wird die Racemattrennung mit 2 bis 7 Äquivalenten, vorzugsweise mit 1 bis 3 Äquivalenten von (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure als Hilfssäure bei Temperaturen oberhalb von 25° C, vorzugsweise jedoch in einem Temperaturbereich zwischen 25 und 30° C, durchgeführt. So erhält man beispielsweise nach gleichzeitigem Lösen von 1 Mol Cimaterol und 1 Mol (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure in Methanol jeweils reines (+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(-)-0,0'-dibenzoyl-L-hydrogentartrat oder (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(+)-0,0'-dibenzoyl-D-hydrogentartrat, wobei nach kurzer Zeit, z. B. nach 1 bis 2 Minuten, jeweils das diesbezügliche reine diastereomere Hydrogentartrat zu kristallisieren beginnt. Dieses Salz fällt schon nach dem ersten Schritt in einer hohen Reinheit von mindestens ee = 94 % an. Sollte eine noch größere Reinheit erforderlich sein, so kann durch Lösen des nach einmaliger Fällung erhaltenen diastereomeren Hydrogentartrats und erneutes Kristallisieren oberhalb von 25° C das Trennverfahren einmal oder erforderlichenfalls mehrmals wiederholt werden.

Von dem so erhaltenen diastereomeren Salz wird anschließend mittels einer Base, vorzugsweise mittels verdünntem Ammoniak, die gewünschte reine enantiomere Base freigesetzt und nach üblichen Methoden

isoliert.

Die erhaltenen enantiomeren Basen können gewünschtenfalls anschließend in ihre Säureadditionssalze, insbesondere für die pharmazeutische Anwendung in ihre physiologisch verträglichen Salze mit anorganischen oder organischen Säuren, vorzugsweise jedoch mit organischen Säuren, übergeführt werden. Als Säuren kommen hierfür beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Weinsäure oder Maleinsäure in Betracht.

Besonders bemerkenswert bei dem erfindungsgemäßen Verfahren ist jedoch, daß bei einer versehentlichen Unterschreitung des Temperaturbereiches das beispielsweise erhaltene racemische Cimaterol-0,0'-dibenzoyl-L- oder Cimaterol-0,0'-dibenzoyl-D-hydrogentartrat nach erneutem Aufschlännen und Erwärmen über 25 °C, in das gewünschte reine diastereomere Hydrogentartrat übergeführt werden kann.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind somit die obigen diastereomeren Salze, (-)-Cimaterol bzw. (+)-Cimaterol, das im wesentlichen optisch rein ist, beispielsweise eine optische Reinheit von mindestens ee = 90 %, vorzugsweise von 94 bis 100 %, aufweist, dessen Säureadditionssalze, insbesondere dessen physiologisch verträgliche Säureadditionssalze mit anorganischen oder organischen Säuren, und dessen Verwendung als Arzneimittel und Leistungsförderer bei Tieren.

Aus dem nachfolgenden Versuchsbericht geht hervor, daß das L-Enantiomere von Cimaterol, also (-)-Cimaterol, wobei unter (-)-Cimaterol dasjenige Enantiomere zu verstehen ist, das die Schwingungsebene von linearpolarisiertem Licht der Natrium-D-Linie nach links dreht, überraschenderweise der alleinige Träger der biologischen Wirkungen von Cimaterol ist:

1. Die beiden Enantiomeren von Cimaterol wurden vergleichend auf eine β -mimetische Wirkung an der glatten Muskulatur des Bronchus, der Skelettmuskulatur und den Fettzellen untersucht. Darüberhinaus wurde ihre akute Toxizität verglichen.

Die Prüfung der β -mimetischen Wirkung an der glatten Muskulatur erfolgte als broncholytische Wirkung in der Versuchsanordnung nach KONZETT u. RÖSSLER (Arch. Exp. Path. Pharmacol. 195, 71-74 (1940)) gegenüber dem Acetylcholin-bedingten Bronchospasmus des Meerschweinchens nach i.v.-Applikation. Aus der mit den verschiedenen Dosen der Prüfsubstanz erzielten Hemmung des Bronchospasmus wurde nach linearer Regressionsanalyse eine ED₅₀ als jene Dosis berechnet, die zu einer 50%igen Hemmung des Bronchospasmus führte.

Die nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werte:

Substanz	ED ₅₀ µg/kg
(-)-Cimaterol	0,27 (0,18 - 0,38)
(+)-Cimaterol	31,30 (5,50 - 48,30)

Das L-Enantiomere ist an den β -Rezeptoren des Bronchus etwa 100 mal wirksamer als das entsprechende D-Enantiomere.

Die Prüfung der β -mimetischen Wirkung an der Skelettmuskulatur erfolgte mit Hilfe der Methode von BOWMAN a. NOTT (Pharmacol. Rev. 21, 27 (1969)). Es wurde der Einfluß auf die Spannung des sich inkomplett tetanisch kontrahierenden M. soleus von narkotisierten Katzen nach i.v.-Applikation geprüft.

Die dabei erzielten Resultate finden sich in der nachfolgenden Tabelle:

Substanz	Dosis $\mu\text{g/kg}$	n	Abnahme der Spannung in %	
			\bar{x}	SD
Cimaterol	0,5	5	38,3	10,8
(-)-Cimaterol	0,5	5	42,1	6,0
(+)-Cimaterol	50,0	5	33,7	8,0

Das L-Enantiomere des Cimaterol ist auch an den β -Rezeptoren der Skelettmuskulatur mehr als 100 mal wirksamer als das entsprechende D-Enantiomere.

Die Prüfung der β -mimetischen Wirkung auf die Fettzellen erfolgte als lipolytische Wirkung an wachen Kaninchen nach i.v.-Applikation. Aus den mit den verschiedenen Dosen der Prüfsubstanzen erzielten Änderungen der freien Fettsäuren im Blut der Kaninchen (bestimmt mit der Methode nach DUNCOMBE: Biochem. J. 88, 7 (1963)) wurde nach linearer Regressionsanalyse eine ED_{150} als jene Dosis berechnet, die zu einer 50%igen Erhöhung der freien Fettsäure im Blut führte.

Die hierbei erhobenen Befunde sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt:

Substanz	$\text{ED}_{150} \mu\text{g/kg}$
(-)-Cimaterol	0,098 (0,078 - 0,118)
(+)-Cimaterol	9,770 (7,440 - 12,700)

Die zur Erzielung einer 50%igen Erhöhung der freien Fettsäuren im Blut des Kaninchens von D-Cimaterol benötigten Dosen liegen etwa 100 mal höher als die des entsprechenden L-Enantiomeren.

Die Bestimmung der akuten Toxizität erfolgte an Mäusen beider Geschlechter in einem Gewicht zwischen 20 und 25 g nach i.v.-Applikation. Aus dem Prozentsatz der Tiere, die innerhalb von 14 Tagen nach der Substanzgabe verstarben, wurde eine LD_{50} nach Probit-Analyse berechnet.

Die nachfolgende Tabelle enthält die gefundenen Werte:

Substanz	$\text{LD}_{50} \text{mg/kg}$
(-)-Cimaterol	74,8 (70,6 - 79,2)
(+)-Cimaterol	86,3 (80,6 - 92,3)

2. Die leistungsfördernde Wirkung von (-)-Cimaterol wurde an Gruppen von jeweils 10 acht Monate alten Lämmern (Suffolk x Galway wether lambs) untersucht, welche 6 Wochen lang mit einem Futter (Trockenzusammensetzung pro kg: 145 g Rohprotein + 70 g Rohfaser + 17 g Öl + 50 g Rohasche) gefüttert wurden, dem jeweils 2 mg/kg die zu untersuchende Substanz zugemischt war. Gleichzeitig wurde sichergestellt, daß den Lämmern während der Versuchsperiode mindestens 10 % Futterüberschuß angeboten wurde. Danach wurden die Lämmer geschlachtet und folgende Parameter ermittelt:

5		Kontrolle	(+)-Cimaterol	(-)-Cimaterol	Cimat rol
10					
15					
20					
25					
30					
35					
40					
45					
50					
	Anfangsgewicht in kg	34.4	34.8	34.2	34.9
	Endgewicht in kg	45.4	45.7	48.0	46.0
	Gewichtszunahme in g pro Tag	259	268	324	275
	Futterverwertung in g Gewichts- zunahme pro kg Futter	190	184	220	196
	Gewicht des Schlachtkörpers in kg	22.8	22.5	24.1	24.0
	Zusammensetzung des Schlachtkörpergewebes (ohne Knochen) in g pro kg:				
	Wasser	501	501	557	556
	Fett	348	341	252	265
	Protein	140	151	177	167

Wie bereits vorstehend erwähnt, geht aus den vorstehenden biologischen Daten hervor, daß überraschenderweise (-)-Cimaterol der alleinige Träger der erwünschten Wirkungen ist. Da das D-Enantiomere aber mit der gleichen Toxizität behaftet ist wie das L-Enantiomere, läßt sich durch den Einsatz des L-Cimaterols anstelle des Racemates das Nutzen/Risikoverhältnis um den Faktor 2 verbessern.

(-)-Cimaterol und dessen physiologisch verträglichen Säureadditionssalze eignet sich daher zur Behand-

lung der Fettsucht, von obstruktiven Lungenveränderungen, allergischem Asthma-Bronchiale, spastischen Bronchitiden, Entzündungen oder vorzeitiger Wehentätigkeit.

Beim Erwachsenen liegt hierbei die Einzeldosis zwischen 0,01 und 50 µg, vorzugsweise jedoch zwischen 0,01 und 10 µg, 2- bis 4-mal täglich. Hierzu läßt sich (-)-Cimaterol oder dessen physiologisch verträglichen Salze gegebenenfalls in Kombination mit anderen Wirksubstanzen, in die üblichen galenischen Zubereitungsformen wie Pulver, Tabletten, Dragées, Kapseln, Suppositorien oder Suspensionen einarbeiten.

Desweiteren kann (-)-Cimaterol und dessen Säureadditionssalze, wie bereits eingangs erwähnt, zur Behandlung fettstüchtiger Tiere wie Hunde und als Folge ihrer körperfettreduzierenden (lipolytischen) Wirkung zur Reduktion unerwünschter Fetteinlagerungen bei der Mastzucht, also zur Verbesserung der Fleischqualität von Masttieren wie Schweinen, Rindern, Schafen und Geflügel eingesetzt werden. Bei den Tieren kann die Applikation der oben genannten Verbindungen oral oder auch nicht-oral, z.B. als Futterzusatz oder durch Injektion oder auch durch Implantate erfolgen. Die Tagesdosis liegt hierbei zwischen 0,01 und 100 µg/kg, vorzugsweise jedoch zwischen 0,01 bis 10 µg/kg Körpergewicht.

Desweiteren kann (-)-Cimaterol und dessen Säureadditionssalze als Leistungsförderer bei Tieren zur Förderung und Beschleunigung des Wachstums, der Milch- und Wollproduktion, sowie zur Verbesserung der Futterverwertung, der Schlachtkörperqualität und zur Verschiebung des Fleisch-Fett-Verhältnisses zugunsten von Fleisch eingesetzt werden. Die Wirkstoffe werden bei Nutz-, Zucht-, Zier- und Hobbytieren verwendet.

Zu den Nutz- und Zuchttieren zählen Säugetiere wie z.B. Rinder, Schweine, Pferde, Schafe, Ziegen, Kaninchen, Hasen, Damwild, Pelztiere wie Nerze, Chinchilla, Geflügel wie z.B. Hühner, Gänse, Enten, Truthühner, Fische, wie z.B. Karpfen, Forellen, Lachse, Aale, Schleien, "yellow tails", Hechte, Reptilien wie z.B. Schlangen und Krokodile.

Zu den Zier- und Hobbytieren zählen Säugetiere wie Hunde und Katzen, Vögel wie Papageien, Kanarienvögel, Fische wie Zier- und Aquarienfische, z.B. Goldfische.

Die Wirkstoffe werden unabhängig vom Geschlecht der Tiere während allen Wachstums- und Leistungsphasen der Tiere eingesetzt. Bevorzugt werden die Wirkstoffe während der intensiven Wachstums- und Leistungsphase eingesetzt. Die intensive Wachstums- und Leistungsphase dauert je nach Tierart von einem Monat bis zu 10 Jahren.

Die Menge der Wirkstoffe, die den Tieren zur Erreichung des gewünschten Effektes verabreicht wird, kann wegen der günstigen Eigenschaften der Wirkstoffe weitgehend variiert werden. Sie liegt vorzugsweise bei etwa 0,01 bis 50 µg/kg insbesondere 0,01 bis 25 µg/kg Körpergewicht pro Tag. Die passende Menge des Wirkstoffs sowie die passende Dauer der Verabreichung hängen insbesondere von der Tierart, dem Alter, dem Geschlecht, dem Gesundheitszustand und der Art der Haltung und Fütterung der Tiere ab und sind durch jeden Fachmann leicht zu ermitteln.

Die Wirkstoffe werden den Tieren nach den üblichen Methoden verabreicht. Die Art der Verabreichung hängt insbesondere von der Tierart, dem Verhalten und dem Gesundheitszustand der Tiere ab.

Die Wirkstoffe können einmalig verabreicht werden. Die Wirkstoffe können aber auch während der ganzen oder während eines Teils der Wachstumsphase temporär oder kontinuierlich verabreicht werden. Bei kontinuierlicher Verabreichung kann die Anwendung ein- oder mehrmals täglich in regelmäßigen oder unregelmäßigen Abständen erfolgen.

Die Verabreichung erfolgt oral oder parenteral in dafür geeigneten Formulierungen oder in reiner Form. Orale Formulierungen sind Pulver, Tabletten, Granulate, Drenche, Boli sowie Futtermittel, Prämixe für Futtermittel, Formulierungen zur Verabreichung über Trinkwasser.

Die oralen Formulierungen enthalten den Wirkstoff in Konzentrationen von 0,01 ppb - 100 %, bevorzugt von 0,01 ppb - 10 %.

Parenterale Formulierungen sind Injektionen in Form von Lösungen, Emulsionen und Suspensionen, sowie Implantate.

Die Wirkstoffe können in den Formulierungen allein oder in Mischung mit anderen Wirkstoffen, Mineralsalzen, Spurenelementen, Vitaminen, Eiweißstoffen, Farbstoffen, Fetten oder Geschmacksstoffen vorliegen.

Die Konzentration der Wirkstoffe im Fertigfutter beträgt normalerweise etwa 0,01 ppb - 50 ppm, bevorzugt 0,1 ppb - 10 ppm.

Die Wirkstoffe können als solche oder in Form von Prämixen oder Futterkonzentraten dem Futter zugesetzt werden.

So enthalten die erfindungsgemäßen Futtermittel neben dem Wirkstoff und gegebenenfalls neben einer üblichen Vitamin-Mineral-Mischung beispielsweise für Mastschweine Gerste, Weizennachmehl, Ackerbohnen, Raps-Extraktionsschrot und Futterfett, für Broiler Mais, Sojabohnenmehl, Fleischmehl, Futterfett und Sojaöl, für Rinder Zuckerrübenschnitzel Maiskleber, Malzkeime, Sojabohnenmehl, Weizen und Molasse

sowie für Lämmer Gerste, Sojabohnenmehl, Mais und Melasse. Zu diesem Futter wird eine der eingangs erwähnten Verbindungen der Formel I als Wirkstoff in einer Konzentration von 0,01 ppb bis 0,50 %, vorzugsweise jedoch von 0,1 ppb bis 0,05 %, zugemischt, wobei die Zumischung vorzugsweise in Form einer Wirkstoffvormischung erfolgt. Diese Vormischung enthält beispielsweise 5 bis 10 000 mg, vorzugsweise jedoch 50 bis 1 000 mg, zweckmäßigerweise in 1 000 g Maisstärke.

Die nachfolgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern:

Referenzbeispiel

10 (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

a) (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(+)-0,0'-dibenzoyl-D-hydrogentartrat
50,0 g (0,23 Mol) Cimaterol und 82,4 g (0,23 Mol) (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure werden in 500 ml Methanol bei Raumtemperatur gelöst. Nach kurzer Lösung kristallisiert das Hydrogentartrat des Cimaterols aus. Die Kristallsuspension wird ca. 2 Stunden bei 19-20 °C Innentemperatur gerührt, abgesaugt und der Filtrerrückstand mit kaltem Methanol nachgewaschen sowie bei 50 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Ausbeute: 90 g (68,0 % der Theorie bezogen auf eingesetztes Racemat),

Schmelzpunkt der freigesetzten Base: 162,8 °C

ee = 8

b) 88 g des gemäß a) erhaltenen Hydrogentartrats werden in 500 ml Methanol bis zur vollständigen Lösung unter Rückfluß gekocht und die klare Lösung wieder auf ca. 15 °C Kolbeninnentemperatur abgekühlt. Das ausfallende Kristalliat wird noch ca. 2-3 Stunden bei 15-18 °C gerührt, abgesaugt, mit kaltem Methanol gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 62 g (70,5 % des Einsatzes),

Schmelzpunkt der freigesetzten Base: 160,9 °C

ee = 24

c) 60 g des gemäß b) erhaltenen Hydrogentartrats werden in 350 ml Methanol analog a) in der Siedehitze gelöst, das Kristalliat ca. 12 Stunden bei 10-15 °C gerührt, abgesaugt, mit kaltem Methanol gewaschen und getrocknet.

Ausbeute: 34 g (56,7 % des Einsatzes),

Schmelzpunkt der freigesetzten Base: 151,6 °C

ee = 45

Nach der 2. Umkristallisation betrug die Gesamtausbeute nur noch 27,2 % der Theorie bezogen auf das eingesetzte Racemat, wobei nur ein enantiomerer Überschub (ee) von 45 erzielt wurde. Wegen der großen Verluste wurde auf eine Fortführung der Kristallisation verzichtet.

Beispiel 1

40 (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

a) (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(+)-0,0'-dibenzoyl-D-hydrogentartrat
50 g (0,23 Mol) 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und 82,4 g (0,23 Mol) (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure werden in einem 1 l Dreihalskolben in 500 ml Methanol bei 25 bis 28 °C unter Rühren gelöst. Aus der klaren Lösung kristallisiert nach ca. 1 bis 2 Minuten das linksdrehende diastereomere Hydrogentartrat. Nach ca. 2 Stunden Nachrührzeit bei 25 bis 28 °C wird das Kristalliat abgesaugt, mit wenig Methanol nachgewaschen und bei 50 °C im Umlufttrockenschrank getrocknet.

Ausbeute: 44 g (66,5 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 140-141 °C

b) 42 g des gemäß Beispiel 1a erhaltenen Hydrogentartrats werden in einem 1 l Dreihalskolben in der Siedehitze unter Rühren in 550 ml Methanol gelöst und die heiße Lösung in einer 2 l Filterpresse über ein Seitz-EK-Filter klarfiltriert. Das Filtrat wird unter schwachem Vakuum auf ca. 100 - 150 ml Lösung eingengt und die entstandene Kristallsuspension ca. 1 Stunde bei 25 bis 28 °C nachgerührt. Das Kristalliat wird abgesaugt, mit wenig Methanol nachgewaschen und bei 50 °C im Umlufttrockenschrank getrocknet. Ausbeute: 35,7 g (85 % bezogen auf das eingesetzte Hydrogentartrat),

Schmelzpunkt: 140-141 °C

c) (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

36,0 g des gemäß Beispiel 1b erhaltenen Hydrogentartrats werden bei Raumtemperatur in 50 ml

konzentriertem Ammoniak und 150 ml Wasser nach und nach eingetragen. Nach 1 Stunde Rühren wird die Kristallsuspension abfiltriert, gut mit deionisiertem Wasser nachgewaschen und bei Raumtemperatur im Umlufttrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Ausbeute: 11,7 g (85,6 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 146,5 °C

$\alpha = -4,37^\circ$

$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$

ee = 99,4

Beispiel 2

(+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

a) (+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(-)-0,0'-dibenzoyl-L-hydrogentartrat

Hergestellt aus 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure analog Beispiel 1a.

Ausbeute: 69,8 % der Theorie,

Schmelzpunkt: 140-141 °C

b) Die weitere Reinigung erfolgt analog Beispiel 1b.

Ausbeute: 83 % bezogen auf das eingesetzte Hydrogentartrat,

Schmelzpunkt: 140-141 °C

c) (+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

Hergestellt analog Beispiel 1c.

Ausbeute: 81 % der Theorie,

Schmelzpunkt: 146,5 °C

$\alpha = +4,38^\circ$

$[\alpha]_D^{20} = +31,5^\circ$, ee = 98,2

Beispiel 3

(+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

Die aus der Fällung gemäß Beispiel 1a erhaltene Mutterlauge wird im Vakuum zur Trockene eingedampft und der erhaltene Rückstand mit 50 ml konzentriertem Ammoniak und 150 ml Wasser aufgenommen und bei ca. 5 bis 10 °C 2 Stunden lang gerührt. Nach dem Absaugen wird der Filtrückstand mit Wasser gut gewaschen und im Umlufttrockenschrank bei Raumtemperatur gut getrocknet.

Ausbeute: 26,5 g (53 % bezogen auf eingesetztes Racemat)

Das so erhaltene rohe (+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol wird mit (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure analog Beispiel 2 gereinigt:

a) Ausbeute: 39,7 g (56,8 % bezogen auf eingesetztes Racemat-Enantiomeren-Gemisch),

Schmelzpunkt: 140-141 °C

b) Ausbeute: 87 % bezogen auf das eingesetzte Hydrogentartrat,

Schmelzpunkt: 140-141 °C

c) Ausbeute: 78,5 % der Theorie,

Schmelzpunkt: 146,5 °C

$\alpha = +4,37^\circ$

$[\alpha]_D^{20} = +31^\circ$, ee = 98

Beispiel 4

(-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol

50 g (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(+)-0,0'-dibenzoyl-L-hydrogentartrat (hergestellt gemäß Referenzbeispiel a), Schmelzpunkt der freigesetzten Base: 162,8 °C; ee = 8) werden mit 500 ml Methanol aufgeschlämmt und bei ca. 28 °C Kolbeninnentemperatur eine Stunde gerührt. Anschließend wird abgesaugt, mit wenig Methanol gewaschen und bis zur Gewichtskonstanz bei 50 °C getrocknet. Ausbeute: 28,0 g (56 % bezogen auf Racemat-Enantiomeren-Gemisch).

Das so erhaltene Hydrogentartrat wird analog Beispiel 1c) mittels verdünntem Ammoniak freigesetzt. Ausbeute: 9,14 g (86 % der Theorie),

Schmelzpunkt: 145 °C

$\alpha = -4,37^\circ$

$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$

ee = 98

5

Beispiel 5

Tabletten mit 2 µg (-)-Cimaterol

10

Zusammensetzung:

1 Tablette enthält:

15

Wirksubstanz 0,002 mg

Milchzucker 82,498 mg

Kartoffelstärke 33,000 mg

20

Polyvinylpyrrolidon 4,000 mg

Magnesiumstearat 0,050 mg

120,000 mg

25

Herstellungsverfahren:

Die Wirksubstanz und Polyvinylpyrrolidon werden in Äthanol gelöst. Die Mischung von Milchzucker und Kartoffelstärke wird mit der Wirkstoff-/Granulierlösung gleichmäßig befeuchtet. Die Feuchtsiebung erfolgt mit 1,5 mm-Maschenweite. Anschließend wird bei 50 °C getrocknet und die Trockensiebung mit 1,0 mm-Maschenweite vorgenommen. Das so erhaltene Granulat wird mit Magnesiumstearat gemischt und zu Tabletten verpreßt.

Tablettengewicht: 120 mg

Stempel: 7 mm, flach

Beispiel 6

Dragées mit 1 µg (-)-Cimaterol

40

Zusammensetzung:

1 Tablette enthält:

45

Wirksubstanz 0,001 mg

Milchzucker 82,499 mg

50

Kartoffelstärke 33,000 mg

Polyvinylpyrrolidon 4,000 mg

Magnesiumstearat 0,500 mg

120,000 mg

55

Herstellungsverfahren:

Dragéekerne analog Tabletten Beispiel 5.

Kerngewicht: 120 mg

Stempel: 7 mm, gewölbt

Die Kerne werden nach bekanntem Verfahren mit einer Hülle überzogen, die im wesentlichen aus Zucker und Talkum besteht. Die fertigen Dragées werden mit Bienenwachs poliert.
 5 Dragéegewicht: 200,0 mg

Beispiel 7

10 Gelatine-Steckkapseln mit 1 µg (-)-Cimaterol

Zusammensetzung:

15 1 Tablette enthält:

	Wirksubstanz	0,001 mg
	Milchzucker	59,999 mg
20	Maisstärke	<u>60,000 mg</u>
		120,000 mg

25 Herstellungsverfahren:

Die Wirksubstanz wird mit Milchzucker und Maisstärke intensiv gemischt und in Gelatine-Steckkapseln geeigneter Größe abgefüllt.

30 Kapselfüllung: 120,0 mg

Beispiel 8

Ampullen mit 2 µg (-)-Cimaterol pro 2 ml

35 Zusammensetzung:

1 Ampulle enthält:

	Wirksubstanz	0,002 mg
40	Zitronensäure	2,500 mg
	Natriumhydrogenphosphat	7,500 mg
	Kochsalz	4,600 mg
45	Ampullenwasser	ad 2,000 ml

Herstellungsverfahren:

50 Die Wirksubstanz, Puffersubstanzen und Kochsalz werden in Ampullenwasser gelöst und anschließend keimfrei filtriert.

Abfüllung: in braune Ampullen zu 2 ml unter Schutzbegasung (N₂)

Sterilisation: 20 Minuten bei 120 °C

55 Beispiel 9

Suppositorien mit 2,5 µg (-)-Cimaterol

Zusammensetzung:

1 Zäpfchen enthält:

5	Wirksubstanz	0,025 mg
	Suppositorienmasse (z.B. Witepsol W 45)	<u>1 699,975 mg</u>
		1 700,000 mg

10

Herstellungsverfahren:

15 In die geschmolzene und auf 40° C abgekühlte Zäpfchenmasse wird die feinpulverisierte Wirksubstanz mit Hilfe eines Eintauchhomogenisators eingerührt und die Masse bei 37° C in leicht vorgekühlte Formen ausgegossen.

Zäpfchengewicht: 1,7 g

20 Beispiel 10Sirup mit 2 µg (-)-Cimaterol pro 5 ml

25 Zusammensetzung:
100 ml Sirup enthält:

	Wirksubstanz	0,04 mg
30	Benzoessäure	0,10 g
	Weinsäure	1,00 g

35

	Zucker	50,00 g
	Apfelsinen-Aroma	1,00 g
40	Lebensmittelrot	0,05 g
	Dest. Wasser	ad 100,00 ml

45

Herstellungsverfahren:

Ca. 60 g dest. Wasser werden auf 80° C erwärmt und darin nacheinander Benzoessäure, Weinsäure, die Wirksubstanz, der Farbstoff und Zucker gelöst. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wird das Aroma
50 zugegeben und auf das gegebene Volumen aufgefüllt. Der Sirup wird filtriert.

Beispiel 11Aerosol-Spray mit 1 µg (-)-Cimaterol pro Hub

55

Zusammensetzung:

5	Wirksubstanz	0,00025 mg
	Soja-Lecithin	0,05000 mg
	Treibgasgemisch 11/12/114 (23:54:23)	<u>69,94975 mg</u>
10		70,00000 mg

Beispiel 12

15 Aerosol-Spray mit 1 µg (-)-Cimaterol pro Hub

Zusammensetzung:

20	Wirksubstanz	0,00025 mg
	Ethanol rein 99,9%ig	0,87500 mg
	Treibgasgemisch 11/12/114 (23:54:23)	<u>69,12475 mg</u>
25		70,00000 mg

Beispiel 13

30 Inhalationslösung mit 59 mg (-)-Cimaterol pro 100 ml

Zusammensetzung:

35	Wirksubstanz	0,59 mg
	Natriumchlorid	900,00 mg
40	Benzalkoniumchlorid	25,00 mg
	Dest. Wasser	ad 100,00 ml

45 Herstellungsverfahren:

Die Wirksubstanz, Kochsalz und Benzalkoniumchlorid werden in dest. Wasser gelöst und anschließend keimfrei filtriert.

50 Beispiel 14

55

Alleinfutter II für Mastschweine

5	Gerste	379 g/kg
	Weizennachmehl	200 g/kg
	Maniokmehl	135 g/kg
10	Ackerbohnen	100 g/kg
	Raps-Extraktionsschrot	100 g/kg
	Futterfett	65 g/kg
	lysinreiches Mineralfutter	
15	für Schweine	20 g/kg
	Wirkstoff-Vormischung	1 g/kg

20

Diese Komponenten in den angegebenen Mengen ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.
Die 1 g Wirkstoffvormischung enthalten z.B. 2 mg Wirkstoff und 0,998 g Maisstärke.

Beispiel 15

25

Mastfutter II für Broiler

30	Mais	634 g/kg
	Sojabohnenmehl	260 g/kg
	Fleischmehl	40 g/kg
	Futterfett	25 g/kg
35	Sojaöl	17 g/kg
	Bicalciumphosphat	12 g/kg
	Calciumcarbonat	6 g/kg
40	Vitamin-/Mineralstoff-	
	mischung	5 g/kg
	Wirkstoff-Vormischung	1 g/kg

45

Diese Komponenten in den angegebenen Mengen ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.
Die 1 g Wirkstoffvormischung enthalten z.B. 1 mg Wirkstoff und 0,999 g Maisstärke.

50 Beispiel 16

55

Kraftfutter für Rinder

5	Zuckerrübenschnitzel	600,0 g/kg
	Maiskleber	100,0 g/kg
	Malzkeime	50,0 g/kg
	Sojabohnenmehl	35,0 g/kg
10	Weizen	119,0 g/kg
	Melasse	60,0 g/kg
	Futterphosphate	12,0 g/kg
15	Calciumcarbonat	2,5 g/kg
	Salz	5,0 g/kg
	Mineralstoffe	10,0 g/kg
20	Vitamin-Vormischung	5,5 g/kg
	Wirkstoff-Vormischung	1,0 g/kg

25 Diese Komponenten in den angegebenen Mengen ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.
Die 1 g Wirkstoffvormischung enthalten z.B. 2 mg Wirkstoff und 0,998 g Maisstärke.

Beispiel 17

30

Mastfutter für Lämmer

	Gerste	690 g/kg
35	Sojabohnenmehl	100 g/kg
	Mais	159 g/kg
	Melasse	30 g/kg
40	Vitamin-/Mineralstoff-	
	mischung	20 g/kg
	Wirkstoffvormischung	1 g/kg

45

Diese Komponenten in den angegebenen Mengen ergeben nach sorgfältigem Mischen 1 kg Futter.
Die 1 g Wirkstoffvormischung enthalten z.B. 2 mg Wirkstoff und 0,998 g Maisstärke.

50 **Patentansprüche**

1. (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und dessen Säureadditionssalze.
2. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie im wesentlichen optisch rein ist.
3. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine optisch Reinheit von mindestens ee = 90 % aufweist.

55

4. Verbindung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine optische Reinheit von mindestens 94 % aufweist.
5. Physiologisch verträgliche Säureadditionssalze der Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4.
6. Arzneimittel, enthaltend eine Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4 oder ein physiologisch verträgliches Säureadditionssalz gemäß Anspruch 5 neben gegebenenfalls einem oder mehreren inerten Trägerstoffen und/oder Verdünnungsmitteln.
7. Verwendung einer Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Herstellung eines Arzneimittels, das für die Behandlung der Fettsucht, von obstruktiven Lungenveränderungen, allergischem Asthma-Bronchiale, spastischen Bronchitiden, Entzündungen oder vorzeitiger Wehentätigkeit geeignet ist.
8. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß auf nichtchemischem Wege eine Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5 in einen oder mehrere inerte Trägerstoffe und/oder Verdünnungsmittel eingearbeitet wird.
9. Verwendung einer Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5 als leistungsförderndes Mittel bei Tieren.
10. Tiernahrung und Prämixe zur Herstellung von Tiernahrung, enthaltend eine Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5.
11. Leistungsförderndes Mittel für Tiere, enthaltend eine Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5.
12. Verfahren zur Herstellung von leistungsfördernden Mitteln für Tiere, dadurch gekennzeichnet, daß eine Verbindung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 5 mit Streck-, Verdünnungs- und Nahrungsmitteln sowie gegebenenfalls weiteren Hilfsstoffen vermischt wird.
13. Verfahren zur Herstellung von (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und von (+)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol, dadurch gekennzeichnet, daß 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylaminoethanol durch Lösen von 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und mindestens 2 Äquivalenten einer optisch aktiven zweibasischen Hilfssäure wie (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure, (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure, (-)-0,0'-Ditolyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Ditolyl-D-weinsäure in einem geeigneten Lösungsmittel kristallisiert wird, wobei eine für jede Hilfssäure charakteristischer Temperaturbereich nicht unterschritten werden darf, das kristallisierte diastereomere Salz abgetrennt wird, anschließend die enantiomere Base freigesetzt wird und gewünschtenfalls anschließend die so erhaltene enantiomere Base in ihre physiologisch verträglichen Säureadditionssalze übergeführt wird.
14. Verfahren gemäß Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß als Hilfssäure (+)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure bei einer Temperatur oberhalb von 25 °C verwendet wird.
15. Diastereomere Salze von 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol mit einer optisch aktiven zweibasischen Hilfssäure wie (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure, (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure, (-)-0,0'-Ditolyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Ditolyl-D-weinsäure.
16. (-)-1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol-(+)-0,0'-dibenzoyl-D-hydrogentartrat.
17. Verfahren zur Herstellung der diastereomeren Salze gemäß Anspruch 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol durch Lösen von 1-(4'-Amino-3'-cyano-phenyl)-2-isopropylamino-ethanol und mindestens 2 Äquivalenten einer optisch aktiven zweibasischen Hilfssäure wie (-)-0,0'-Dibenzoyl-L-weinsäure, (+)-0,0'-Dibenzoyl-D-weinsäure, (-)-0,0'-Ditolyl-L-weinsäure oder (+)-0,0'-Ditolyl-D-weinsäure in einem geeigneten Lösungsmittel kristallisiert wird, wobei eine für jede Hilfssäure charakteristischer Temperaturbereich nicht unterschritten werden darf, und

das kristallisierte diastereomere Salz abgetrennt wird.

18. Verfahren gemäß Anspruch 13 oder 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Kristallisation oberhalb von 20 ° C, vorzugsweise jedoch zwischen 25 und 30 ° C, durchgeführt wird.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 91 10 6774

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
D,A	US-A-4 119 710 (G. ENGELHARDT et al.) * Patentansprüche; Beispiel 42 * - - -	1-8	C 07 C 255/59 A 61 K 31/275 A 23 K 1/16
D,A	US-A-4 407 819 (J.A. KIERNAN et al.) * Patentanspruch 1; Spalte 36 * - - -	9-12	
A	GB-A-1 187 546 (BOEHRINGER INGELHEIM) * Beispiel 10 * - - - - -	13-18	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5)
			C 07 C 255/00 A 61 K 31/00
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchenort		Abschlussdatum der Recherche	
Den Haag		22 Juli 91	
		Prüfer	
		WRIGHT M.W.	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet			
Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie			
A : technologischer Hintergrund			
O : nichtschriftliche Offenbarung			
P : Zwischenliteratur			
T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze			
E : älteres Patentedokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist			
D : in der Anmeldung angeführtes Dokument			
L : aus anderen Gründen angeführtes Dokument			
& : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument			

THIS PAGE BLANK (USPTO)